

UNIVERSITÉ DE GENÈVE

Institut d'hygiène

FACULTÉ DE MÉDECINE

Directeur: Professeur E. Grasset

DIAGNOSTIC DE MÉNINGITES LYMPHOCYTAIRES A VIRUS E.C.H.O. IX PAR LA FIXATION DU COMPLÉMENT

THÈSE

présentée à la Faculté de médecine de l'Université de Genève
pour obtenir le grade de Docteur en médecine

par

MENACHEM LÉVI

de

Jérusalem (Israël)

Thèse N° 2562

GENÈVE

ÉDITIONS MÉDECINE ET HYGIÈNE

1958



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41552321_0126

UNIVERSITÉ DE GENÈVE

Institut d'hygiène

FACULTÉ DE MÉDECINE

Directeur: Professeur E. Grasset

DIAGNOSTIC DE MÉNINGITES LYMPHOCYTAIRES A VIRUS E.C.H.O. IX PAR LA FIXATION DU COMPLÉMENT

THÈSE

présentée à la Faculté de médecine de l'Université de Genève
pour obtenir le grade de Docteur en médecine

par

MENAHM LÉVI

de

Jérusalem (Israël)

Thèse N° 2562

GENÈVE

ÉDITIONS MÉDECINE ET HYGIÈNE

1958



*La Faculté de médecine, sur le préavis de Monsieur le Docteur
Emile Novel, chargé E.R. des cours d'hygiène et bactériologie,
autorise l'impression de la présente thèse, sans prétendre par là
émettre d'opinion sur les propositions qui y sont énoncées.*

Genève, le 31 mars 1958.

Le doyen :

Eric MARTIN

Thèse N° 2562

Je tiens à exprimer à la mémoire de mon Maître, Monsieur le Professeur E. Grasset, toute ma gratitude pour avoir bien voulu présenter cette thèse. Je lui dois l'inspiration de ce travail, ainsi que de judicieux conseils au cours de son élaboration.

Je suis heureux de pouvoir également témoigner ma reconnaissance au Docteur Valentin Bonifas, pour avoir bien voulu diriger cette thèse. Je lui dois l'exécution de ce travail.

A MES PARENTS pour la réalisation d'un rêve.

INTRODUCTION

Depuis que Walgren, en 1925, a défini la notion de méningite aseptique, ou méningite lymphocytaire, ou encore, méningite abactérienne, à liquide céphalo-rachidien limpide, on a décrit de nombreuses formes de cette affection qu'en l'absence d'étiologie connue on classait sous le nom de méningite idiopathique.

En 1956, Gsell (1) passe en revue le groupe de ces méningites et analyse, en même temps que leurs procédés de diagnostic, les différentes étiologies reconnues. Dans le tableau 1, nous mentionnons celles d'entre elles qui sont dûes à des virus.

TABEAU 1.-

<u>Maladies</u>	<u>Etiologie</u>	<u>Diagnostic de laboratoire</u>
Parotidite épidémique Méningite d'emblée ou par séquelle.	Virus ourlien	Isolement du virus Tard : FC.
Herpes simplex sous toutes ses formes, en particulier, buccale, dont la méningite est une complication.	Virus herpétique	Isolement du virus FC.
Zona avec évolution encéphalitique.	Virus du zona	Aucun.
Poliomyélite non pa- ralytique.	Poliovirus homi- nis	Isolement du virus et mon- tée du taux d'anticorps, soit FC, soit neutrali- sants.
Chorioméningite lym- phocytaire (transmis- sible à l'homme par la souris).	Virus d'Arm- strong	Isolement à partir du sang et du LCR (cobaye, souris). Plus tard, FC.
Encéphalo-myocardite.	Virus EMC (transmise à l'hom- me par les animaux?) Columbia SK Columbia MN Encéphalite Mengo Groupe de la para- poliomyélite	Aucun, sauf cas isolés.
Angine herpétiforme Myalgies épidémiques (Maladie de Bornholm).	Virus de Coxsackie A et B (plus de 20 types)	Isolement et épreuves sé- rologiques. L'isolement se fait sur souris ou hamster nouveau-nés, de même que la neutralisation, sauf pour le groupe B et le ty- pe Ag, cultivables sur cultures cellulaires.

<u>Maladies</u>	<u>Etiologie</u>	<u>Diagnostic de laboratoire</u>
Encéphalites d'origine arthropodique.	En Europe, encépha-	Isolement par inoculation
Méningite lymphocytaire	lite russe verno-	du sang à la souris.
Polio non paralytique	estivale.	FC.
	Louping ill du mou-	
	ton (transmis par	
	Ixodes ricinus).	
Psittacose (ornithose)	Complications mé-	FC.
Lymphogranulomatose	ningées.	
vénérienne.		
Fièvre Q.	Rares cas méningés,	Tôt : Isolement (cobaye
	mais méningisme	et souris).
	fréquent.	Tard : FC.

Légende : FC = Réaction de Fixation du Complément.

Ces dernières années, au cours du diagnostic des maladies que l'on peut grouper sous le nom de poliomyélite non paralytique, on s'est attaché tout spécialement à l'étude des virus infectant l'homme à partir du tractus intestinal, les virus entéraux (enteric viruses). Le groupe des virus de Coxsackie (2, 3) venait s'ajouter aux virus polio dès 1948 ; mais c'est petit à petit que de nombreux virus inconnus étaient isolés, de plus en plus abondamment, à partir de malades isolés ou au sein de foyers épidémiques, à la faveur des perfectionnements et de l'usage plus fréquent des méthodes d'isolement sur cultures de tissus (cultures cellulaires de souches de culture continue - souche HeLa et souche KB surtout - et cellules explantées par la trypsination - cellules de reins humains et simiens, cellules amniotiques humaines).

Dans le présent travail, nous décrivons les propriétés d'un groupe nouveau de virus entéraux et, tout particulièrement, de l'un d'entre eux fréquemment rencontré en Suisse depuis quelques temps ; en même temps, nous présentons l'étude de la fixation du complément au moyen d'antigène dérivés de cultures de tissus infectées, et l'emploi qu'on en pourrait faire dans le but du diagnostic.

Le diagnostic de laboratoire des infections dues aux virus entéraux.

Les virus entéraux sont transmis le plus souvent à l'homme par l'homme, soit directement, soit par l'intermédiaire d'objets ou d'aliments souillés, que ce soit par la salive ou que ce soit par des déjections fécales. Le nombre très petit de cas cliniques observables pendant une période épidémique, par rapport au nombre des individus infectés, l'immunisation spontanée des populations contre ces virus, l'isolement possible de virus des selles de personnes sai-

nes, rendent le diagnostic difficile, puisque la présence de virus ou d'anticorps neutralisants ne suffit pas à signer l'affection actuelle. Il serait possible d'utiliser la notion de montée du taux d'anticorps au cours de la période qui sépare un prélèvement précoce d'un prélèvement tardif, si la précocité était toujours reconnaissable. La durée très variable de la période d'incubation, au cours de laquelle s'amorce la synthèse des anticorps circulants, empêche fréquemment qu'au début de l'affection clinique, on se trouve au début de l'infection, donc de la période d'immunisation. C'est la raison pour laquelle la recherche des anticorps fixant le complément semble devoir fournir la méthode de diagnostic la meilleure, ces anticorps étant tout à la fois précoces et de durée de vie relativement brève, dans l'ensemble du groupe entéral.

L'exemple de la poliomyélite a montré qu'il était possible d'utiliser ces réactions pour le diagnostic, à la condition de mesurer aussi bien le titre des anticorps que l'avidité du complexe antigène-anticorps pour le complément (4). En effet, les anticorps homotypiques fixant le complément ont une assez longue durée de vie, mais l'avidité élevée, comme la fixation hétérotypique, en ont une courte.

Dans les autres groupes de virus entéraux, les relations sérologiques entre les types sont très variables. Si les anticorps neutralisants sont d'une spécificité assez étroite, il n'en est pas toujours de même des anticorps fixant le complément.

Dans ce travail, aucune tentative n'a été faite pour séparer la réaction obtenue à partir du sérum des malades envers le type de virus utilisé, de celle qui pourrait être obtenue avec d'autres membres du même groupe. C'est seulement vis-à-vis des poliovirus que la distinction a été faite.

LES VIRUS ECHO

Entre 1951 et 1954, Kibrick (5) isola, au cours des épidémies estivales de poliomyélite et, tout particulièrement, des cas non paralytiques, un nombre croissant de virus n'appartenant ni aux Poliovirus, ni au groupe de Coxsackie. Meyer (6), au cours de l'étude de 416 cas d'affection ayant reçu la dénomination provisoire d'infection probable du système nerveux par un virus et comportant un syndrome paralytique ou un syndrome méningé sans paralysie, isole, en dehors des cas poliomyélitiques, 13 souches de virus étranger au groupe poliovirus. Les malades ont développé un taux élevé d'anticorps envers le virus qu'ils avaient hébergé. Meyer a pu répartir ces 13 souches en trois groupes sérologiques distincts, par l'épreuve de neutralisation.

En 1955, Ramos-Alvarez et Sabin (7) ont tenté d'isoler, des selles de 3.337 enfants sains d'Amérique et du Mexique, des virus dont ces sujets auraient pu être porteurs. Ils trouvent, entre autres, 26 souches de virus non-poliomyélitiques à Cincinnati, dont un seul appartient au groupe B des virus de Coxsackie (type 4). Les autres se répartissent en 5 types antigéniquement distincts. Ils sont distincts aussi au groupe APC récemment décrit par Rowe et al. (8) et des virus trouvés dans les singes normaux. Ces virus entéraux humains (human enteric viruses) ont été nommés selon Melnick et Enders, virus orphelins.

En 1955, le comité des virus ECHO a défini le nom sous lequel, jusqu'à plus ample informé, on grouperait les différents virus répondant aux caractéristiques que l'on trouvera au tableau No 2, groupe ECHO : Ce sont des virus entéraux (dont l'habitat normal est le tube digestif), cytopathogènes (leur multiplication dans les cellules sensibles en culture cause des altérations, puis la destruction de ces dernières), humains et orphelins (pour n'appartenir à aucun des deux groupes déjà constitués : Poliovirus et Coxsackie) (9).

TABEAU 2.-

PROPRIETES DES VIRUS ENTERAUX

Poliovirus

<u>Pathogènes pour :</u>	<u>Cytopathogènes pour :</u>	<u>Habitat le plus important :</u>
Homme, singe ; souris et rat du coton (type 2)	Cellules humaines di- verses : Amniotiques, fibroblastes, etc. souches HeLa et KB. Cellules rénales, ain- si que cellules réna- les simiennes et fibro- blastes simiens.	Tractus digestif, humain et simien.

Groupe de Coxsackie

A Homme, souri- ceau et autres rongeurs.	Seul, Ag/RS. (éventu- ellement fibroblastes humains).	
B Homme, souri- ceau, souris.	Cellules HeLa ou KB et Cellules RS, irrégu- lièrement.	Tractus digestif de l'homme. Rongeurs sauvages.

Groupe ECHO

Homme Seules, certaines souches du type IX sont pathogè- nes pour souri - ceaux.	Cellules rénales hu- maines ou simiennes. Adaptation parfois à HeLa ou KB.	Tractus digestif de l'homme.
---	---	---------------------------------

Aujourd'hui, on connaît 19 types sérologiques de virus ECHO, dont plusieurs n'ont pas de relation avec des maladies et n'ont été rencontrés que chez des individus sains. Ce sont ces virus qui ont justifié le sujet (Virus en quête de maladie) d'une réunion aux Etats-Unis.

Tous les virus ECHO ont été isolés sur des cultures de cellules de reins de singe ou de cellules amniotiques humaines. Les cellules HeLa ou KB sont moins sensibles à de nombreux types de ces virus que les précédentes. Les liquides des cultures infectées, après dégénérescence cellulaire, contenaient un antigène fixant le complément.

Comme les virus poliomyélitiques, les virus ECHO sont insensibles à l'éther, mais ils semblent moins stables que les polio-virus dans les matières fécales (Krech, 10).

Ils ne sont neutralisés par aucun des sérums antipoliomyélitiques ou par ceux du groupe de Coxsackie. Ils sont neutralisés par leurs antisérums homologues seulement. On rencontre leurs anticorps chez beaucoup d'individus de la population américaine (Ramos-Alvarez, 7), comme aussi dans la population suisse (Krech, 12), puisque les gamma-globulines préparées à partir de mélange de sérums de donneurs de ces deux pays neutralisent les 14 premiers prototypes. L'infection endémique est donc probablement très répandue.

Ils n'ont pas de relation sérologique avec d'autres virus que l'on peut trouver dans le tractus digestif (Herpes simplex, APC, oreillons, etc.).

Au sein des espèces simiennes que l'on peut employer au laboratoire sous la forme de culture de leurs cellules rénales, on peut reconnaître une susceptibilité très différente envers les différents sérotypes de virus ECHO. Macaculus mulatta et irus sont susceptibles tous deux à tous les types de 1 à 13. Cebus capucina est sensible

au sérotype 10, mais résistant aux types 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 et 9.
Erythrocephus patras est sensible au type 7, mais résiste aux types 1,
2, 3, 4, 5, 6 et 9.

EPIDEMIOLOGIE

La méningite lymphocytaire due aux virus ECHO apparaît cycliquement, au cours du dernier semestre de chaque année (Krech, 11).

Le nombre des cas dans les différentes classes d'âge en Suisse ne semble pas très différent ; on note toutefois une certaine prédominance dans les classes d'âge allant jusqu'à 20 ans.

Description clinique générale des infections par les virus ECHO.-

Bien que la relation étiologique des méningites lymphocytaires avec les virus ECHO ne soit pas encore prouvée de manière satisfaisante, la concordance observée entre la méningite et l'isolement de virus ECHO ou la montée d'anticorps contre ces virus, dès les trois premiers cas de Melnick à Providence, est une indication dont il est usuel de tirer provisoirement la conséquence pratique : ces virus sont les agents causals des affections dans lesquelles on les rencontre.

Cette évidence est supportée par plusieurs travaux, dont nous citerons le plus caractéristique : Karzon et al. (13).

Karzon et al. étudient 7 cas admis à l'Hôpital des enfants de Buffalo, en provenance du village de Holland, N.Y., avec le diagnostic de poliomyélite non paralytique, dans le courant de juillet 1955. Ces cas appartiennent à 4 familles. Une enquête révèle que 17 autres cas ont été observés dans le même village, mais n'ont pas été hospitalisés pendant la période s'étendant de juillet à septembre 1955. Ceci confirme le caractère épidémique de l'infection. Les symptômes cliniques observés chez ces garçons de 4 à 17 ans étaient : fièvre, céphalées, douleurs musculaires généralisées, douleurs mal localisées dans le thorax et l'abdomen. Ils souffraient de troubles gastro-intestinaux. L'examen clinique révélait une atteinte méningée, ainsi qu'une altération des réflexes dans certains cas, ou un affaiblissement musculaire transitoire. Au début, une pharyngite était observable dans tous les cas.

La durée totale de la maladie a varié entre 5 et 15 jours, avec une durée moyenne de 9 jours. L'évolution s'est montrée bénigne.

Le liquide céphalo-rachidien était anormal dans tous les cas : limpide, il contenait 33 à 231 cellules par cm^3 , dont 65 à 95 % étaient des lymphocytes. Les protéines totales étaient montées à des valeurs de 22 à 96 mg./100 cm^3 . Les essais de culture bactériologique restaient stériles. Le sang périphérique restait normal, à part une augmentation légère des lymphocytes et des neutrophiles.

Les tentatives d'isolement de virus à partir des prélèvements de gorge, du LCR, du sang et des selles de ces malades, ont permis 14 fois l'isolement d'agents cytopathogènes pour les cellules de reins de singe. Les prélèvements avaient été faits pendant la phase aiguë dans la gorge, le rachis et le sang : dans les prélèvements de selles, 2 jours plus tard.

Les essais de neutralisation de ces agents par des sérums poliomyélitiques monotypiques sont restés négatifs, de même que les tentatives faites au moyen des sérums correspondant aux types cytopathogènes des virus de Coxsackie. Ces virus ont donc été provisoirement classés parmi le groupe ECHO et, plus tard, au type 6.

Le virus ECHO, type 9.-

Les caractéristiques biologiques d'ECHO 9 ne se différencient guère de celles des autres types, à ceci près que certaines de ses souches sont pathogènes pour le souriceau et adaptables à la croissance sur cellules HeLa (Krech, comm. pers., 13), tandis que les autres ne le sont pas, elles se développent seulement dans les cellules de reins de singe ou dans les cellules amniotiques humaines.

Comme beaucoup des virus de ce groupe, il se multiplie relativement pauvrement dans les cellules sensibles, de telle sorte que le titre des virus obtenus en culture n'est jamais élevé. C'est une des raisons qui en font un antigène faible, soit pour l'immunisation des animaux servant à la préparation des sérums, soit pour les réactions de fixation du complément.

On le rencontre dans des foyers de méningites lymphocytaires, accompagnées parfois d'une éruption du type rubéolique, de conjonctivites et de paralysies intéressant la région cervicale et les deltoïdes surtout. Sa présence a été identifiée dans de tels cas en Suisse au cours du 2ème semestre de l'année (Krech, 11, 12 ; Bon, 14). La forme épidémiologique semble être en général celle de petits foyers circonscrits aussi bien dans l'espace que dans le temps (14, 15). On en rencontre aussi des cas isolés.

DIAGNOSTIC

Le diagnostic par l'isolement du virus à partir des selles, ou mieux, à partir du prélèvement de gorge précoce, est possible. De même, la mesure des anticorps neutralisants est une méthode sûre. Ces deux procédés de laboratoire sont malheureusement coûteux. L'application de la fixation du complément se heurte à la mauvaise qualité des antigènes produits en cultures de tissus, les liquides de cultures infectées étant d'un titre trop faible pour fournir une réaction convenable, utilisable en routine. C'est la raison pour laquelle nous avons recherché s'il était possible de concentrer simplement des liquides de cultures infectées, pour augmenter la puissance de l'antigène fixant le complément.

EXPERIENCES

I.- MATERIEL ET METHODES :

1. Fixation du complément.-

Nous avons utilisé une modification de la technique de Fulton et Dumbell (16) qui est en usage dans le service des virus. Elle utilise, comme l'originale, de faibles quantités de réactifs, déposés en gouttes à la surface de plaques de plexiglas.

La quantité de complément était uniformément 1 unité $\frac{1}{2}$. L'hémolysine antimouton *) était introduite à raison de 4 unités, en même temps que des hématies à 0,5 %.

L'incubation de 17-18 heures à + 4°C précédait une incubation de deux heures à 37°C, cette dernière en présence du système hémolytique préincubé pendant 1 heure.

2. Antigène.-

20 cc. de virus de haut titre - le plus élevé possible, servent à inoculer deux flacons de cultures de reins de singes contenant

*) Institut Sérothérapique et Vaccinal, Berne.

chacun 220 cc. de milieu de culture. La dégénérescence cellulaire se produit en 36 heures, les flacons sont congelés à -40°C , puis dégelés. Le liquide est centrifugé rapidement à 3.000 tm., avant d'être stocké à 0°C .

L'antigène que constitue cette suspension virale - qui titre environ 10^{-5} , - est d'une puissance à peu près nulle pour la réaction de fixation du complément, en présence de sérum de singe hyperimmun monotypique ECHO 9 ou en présence de sérums de malades chez lesquels des souches de ce virus avaient été isolées.

Pour augmenter la puissance de l'antigène, ce dernier a été concentré par ultracentrifugation - centrifugeuse Spinco, rotor 40, 30.000 tm. pendant 90 minutes. Les culots de centrifugation sont de petits amas blanchâtres difficiles à resuspendre, dans une solution tampon isotonique stérile et qu'on laisse à 0°C pendant la nuit avant de faire aisément la suspension par pipettage répétés. Une concentration de 100 fois fournit un liquide opalescent.

3. Sérums.-

a) Référence : un sérum de singe hyperimmun anti-ECHO 9, aimablement remis au laboratoire par le Dr Krech, et doué d'un haut titre neutralisant, a été utilisé comme sérum de référence.

b) Sérums certainement anti-ECHO 9 : provenant de cas de méningite lymphocytaire à ECHO 9, soit de Genève, soit de St-Légier sur Vevey, soit encore de Berne.

Complément.-

Du sérum frais de cobaye est stocké en ampoules de

0,5 cc. à -40°C , moins de trois heures après la ponction. Ce complément est utilisé sans variation de titre pendant plus de 4 mois. Le titrage préalable en présence des antigènes a déterminé la dilution de 1/80 comme celle qui fournit dans ce système 1 $\frac{1}{2}$ unité. L'antigène ECHO 9 n'a pas montré d'activité anticomplémentaire.

Lecture.-

Pour simplifier la lecture des résultats, nous avons adopté une nomenclature simplifiée :

- 4 : Absence d'hémolyse (ou hémolyse légère colorant le liquide de la goutte autour d'un amas normal d'hématies).
- 2 : Hémolyse partielle.
- 0 : Hémolyse complète.

Puissance de l'antigène.-

Le titrage en échiquier de l'antigène contre des dilutions progressives du sérum-étalon (singe hyperimmunisé *) montre qu'à la valeur de dilution 1/5, l'antigène ne fixe pas 1 $\frac{1}{2}$ unité de complément. A la dilution $\frac{1}{2}$, l'antigène est juste assez puissant pour fixer 1 $\frac{1}{2}$ unité de complément. C'est cette dilution, correspondant donc à 1 unité d'antigène, qui sera utilisée dans le travail.

Les antigènes poliomyélitiques sont constitués de liquides de culture de cellules KB infectées par des virus-types et titrant au moins 10^{-7} DI₅₀/cc. Ils sont utilisés à la dilution $\frac{1}{2}$, à laquelle ils fixent presque 2 unités de complément.

*) Nous remercions très vivement le Dr U. Krech pour l'envoi de ces sérums, ainsi que pour le sérum de référence.

Contrôles de la réaction.-

Chaque expérience est accompagnée de contrôles :

- a) Activité anticomplémentaire du sérum, en présence du liquide de culture infectée de virus ECHO 9 (l'antigène a été extrait du même lot de liquide infecté), à la valeur de 1/4. Ce contrôle a montré que l'antigène est toujours trop dilué dans ces liquides pour pouvoir fixer une quantité appréciable de complément.
- b) Quantité de complément : des contrôles faits selon le schéma de Kolmer avec 1 $\frac{1}{2}$, 1 et $\frac{1}{2}$ unité de complément, en présence de l'antigène ECHO 9, accompagnent chaque expérience.

II.- REACTIONS.

Spécificité.-

La spécificité de la réaction a été mise à l'épreuve brièvement en pratiquant la fixation du complément au moyen de sérums tardifs de cas de poliomyélite avérée (virus-type 1), précoce et tardif, de sérums tardifs de pneumonie atypique (psittacose) et de sérums provenant de cas de méningite aseptique dans lesquels un virus ECHO 9 avait été isolé.

<u>Antigènes</u>	<u>Sérums dilués</u>	<u>1/4*)</u>	<u>1/4</u>	<u>1/16</u>	<u>1/64</u>
Polio 1	Ad précoce	o	4	4	2
Polio 2		o	2	o	o
Polio 3		o	o	o	o
ECHO 9		o	o	o	o
Polio 1	Ad tardif	o	4	4	4
Polio 2		o	4	2 **)	o
Polio 3		o	o	o	o
ECHO 9		o	o	o	o
	1851 Psittacose				
Polio 1		o	o	o	o
Polio 2		o	o	o	o
Polio 3		o	o	o	o
ECHO 9		o	o	o	o
	1853 Psittacose				
Polio 1		o	o	o	o
Polio 2		o	o	o	o
Polio 3		o	o	o	o
ECHO 9		o	o	o	o
	Bo82 Méningite ECHO 9				
Polio 1		o	o	o	o
Polio 2		o	o	o	o
Polio 3		o	o	o	o
ECHO 9		o	4	4	4
	Bon2 Méningite ECHO 9				
Polio 1		o	o	o	o
Polio 2		o	o	o	o
Polio 3		o	o	o	o
ECHO 9		o	4	4	o

*) Contrôle constitué par du liquide de culture ECHO 9 non concentré et non chauffé.

**) Montée hétérotypique des anticorps, observée aussi bien par la fixation du complément que par la neutralisation dans ce cas.

Application au diagnostic de cas de
méningite lymphocytaire

<u>No sérum</u>	<u>1/4 **)</u>	<u>1/4</u>	<u>1/16</u>	<u>1/64</u>
659	o	o	o	o
662	o	4	4	2
663	o	o	o	o
689	o	o	o	o
703	o	o	o	o
723	o	4	4	4
730	o	o	o	o
755	o	4	4	2
820	o	4	4	2
821	o	4	4	o
822	o	4	4	4
824	o	4	2	2
885	o	2	2	o

Tous ces sérums ont été prélevés au cours de l'été 1956, pendant la période où les isolements de virus ECHO 9 ont été les plus abondants. Cependant, dans aucun de ces cas, le diagnostic étiologique n'avait pu être fait, aucun virus n'ayant été isolé. Dans 7 cas sur 13, la réaction est positive envers l'antigène ECHO 9, indiquant qu'à cette période, la moitié des cas de méningite étaient probablement dus à des infections par le virus ECHO 9.

**) Contrôle constitué par le liquide des cultures d'ECHO 9 non concentré.

Titres des anticorps ECHO 9 rencontrés dans une population normale.

<u>No sérum</u>	<u>1/4 **)</u>	<u>1/4</u>	<u>1/16</u>	<u>1/64</u>
1047	0	0	0	0
1050	0	4	0	0
1051	0	0	0	0
1054	0	0	0	0
1091	0	0	0	0
1093	0	0	0	0
1094	0	2	0	0
1098	0	0	0	0
1100	0	0	0	0
1159	0	0	0	0
1185	0	0	0	0

Ces sérums ont été prélevés dans le cours de décembre 1956, soit trois mois environ après la fin de la période montrant l'incidence maximum des infections ECHO 9. Il n'a pas été possible de savoir si un épisode méningé avait affecté les deux enfants montrant les réactions positives à 1/4.

**) Contrôles constitués par le liquide de culture infecté ECHO 9 non concentré.

Montée des anticorps fixant le complément dans quelques cas avérés de méningite à ECHO 9.-

Mei.	1/4 **)	1/4	1/16	1/64
5 jours	o	2	o	o
10 jours	o	4	2	2
Be avant	o	o	o	o
jour début	o	o	o	o
2 sem.	o	4	4	2
Cle. 664	o	4	2	2
723	o	4	4	4

**) Contrôle (liquide infecté non concentré).

Durée de vie des anticorps chez les malades.-

Sérum	1/4 **)	1/4	1/16	1/64
Bo821	o	4	4	2
Bo882 (6 sem.)	o	4	2	o
Bon 1	o	4	4	4
Bon 2 (6 sem.)	o	4	4	2

Les anticorps fixant le complément semblent avoir une durée de vie relativement brève dans les infections cliniques à ECHO 9.

Stabilité de l'antigène.-

Comme exemple, nous donnons une expérience dans laquelle la quantité de complément est 1 unité $\frac{1}{2}$, sévèrement contrôlée, faite avec le même sérum qu'au début de la série de ces expériences et faite après toutes les autres, soit trois semaines après la préparation de l'antigène.

Sérum	1/4 **)	1/4	1/16	1/64
Bo 1, au début	o	4	4	4
Bo 1, au début	o	3	3	2
Bo 1, à la fin	o	3	3	2

Les notations, dans cette seule expérience, sont les

notations classiques de Fulton et Dumbell, allant de 0 à 4 en passant par les valeurs 1, 2 et 3. La puissance de l'antigène, en trois semaines de conservation au frigo simple (+4°C), semble un peu diminuée.

CONCLUSIONS

1) L'antigène fixant le complément accompagne le virus ECHO 9 lors de l'ultracentrifugation.

2) Il est possible de concentrer suffisamment cet antigène pour l'utiliser dans les réactions de routine.

3) Les réactions pratiquées sur un petit nombre d'échantillons de sérum de malades ou de personnes saines montrent que l'on peut détecter une propriété spécifique dans les sérums de malades chez lesquels un virus ECHO 9 a été isolé, alors qu'aucune fixation du complément n'a pu être observée en présence des sérums de malades atteints, soit de la poliomyélite du type 1, soit de psittacose. On est donc en droit d'attribuer, jusqu'à plus ample informé, les réactions positives obtenues avec le sérum de malades ayant eu une méningite lymphocytaire à une infection causale par le virus ECHO 9. En d'autres mots, dans le cadre restreint de ces expériences, la réaction de fixation du complément avec l'antigène ECHO 9 concentré est spécifique.

4) L'antigène semble relativement stable.

BIBLIOGRAPHIE

- 1.- O. Gsell : Diagnostic différentiel de la méningite séreuse aigüe, Symposium Ciba, 1956, Vol. 4, No 5, p. 144.
- 2.- G. Dalldorf et G. Sickles : Unidentified filterable agent isolated from the feces of children with paralysis. Science, 1948, 108, p. 61.
- 3.- J.L. Melnick : Studies of the Coxsackie viruses. Properties, immunological aspect and distribution in nature. Bull. N.Y. Acad. Med., 1950, 26, No 5, p. 342.
- 4.- F.L. Black : Poliomyelitis complement-fixing antibodies and their demonstration. Annals N.Y. Acad. Sci., 1955, 61, p. 781.
- 5.- S. Kibrick, L. Melendes et J.F. Enders : Clinical associations of enteric viruses. Read before the New York Acad. Sci. Conference on Viruses in Search of Disease, 1956.
- 6.- Meyer : Cité par Kibrick et al. (5).
- 7.- M. Ramos-Alvarez & A.E. Sabin : Characteristics of poliomyelitis and other enteric viruses recovered in tissue culture fro healthy American children. Proc. Soc. exper. Biol. Med., 1954, 87, 655.
- 8.- W.O. Rowe, R.J. Huebner, L.D. Gilmore, R.M. Parrott & T.G. Ward : Isolation of a cytopathogenic agent from human adenoids undergoing spontaneous degeneration in tissus culture. Proc. Soc. exper. Biol. Med., 1953, 84, 570.

- 9.- Committee on ECHO viruses : Enteric Cytopathogenic Human Orphan (ECHO) Viruses. Science, 1955, 122, 1187.
- 10.- U. Krech : Ergebnisse virologischer Untersuchungsmethoden bei Patienten mit Infektionen des Zentralnervensystems. Schweiz. Med. Wschr., 1956, 86, 1406.
- 11.- U. Krech : Ueber das Vorkommen von "ECHO-Virus" in der Schweiz. Schweiz. Med. Wschr., 1957, 87, 558.
- 12.- D.T. Karzon, A.L. Barron & W. Winkelstein Jr, S. Cohen : Isolation of ECHO virus type 6 during an outbreak of seasonal aseptic meningitis. J.A.M.A., 1956, 162, 1298.
- 13.- U. Krech : 1957, Comm. Pers.
- 14.- V. Bonifas : 1957, Comm. Pers.
- 15.- H.R. Marti : Die Ausbreitung einer Epidemie gutartiger Virus-Meningitis in dem aargauischen Dorf Zetzwil. XLème réunion annuelle de la Soc. suisse de Microbiologie, 1957. Sous presse.
- 16.- F. Fulton & K.R. Dumbell : The serological comparaison of strains of influenza virus. J. gen. Microbiol., 1949, 3, 97.

